

**ПЕРАПРАЦОЎКА І ЗАХАВАННЕ  
СЕЛЬСКАГА СПАДАРЧАЙ ПРАДУКЦЫІ**

УДК 637.3:579:664.87

Н. Н. ФУРИК, Е. В. САФРОНЕНКО, Н. К. ЖАБАНОС, Н. В. ОБРАЗЦОВА

**ПОЛИВИДОВЫЕ КОНЦЕНТРАТЫ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ  
ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ ПРОДУКТОВ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ  
НА МОЛОЧНОЙ ОСНОВЕ**

*Институт мясо-молочной промышленности*

*(Поступила в редакцию 25.03.2009)*

**Введение.** Бактериальные концентраты (БК) молочнокислых бактерий – обязательный элемент современной технологии производства ферментированных молочных продуктов. Многочисленные исследования [1–3] обусловили необходимость создания БК молочнокислых бактерий, состоящих из ассоциации микроорганизмов разных видов. При подборе культур в их состав наибольшее внимание уделяется лактобациллам и бифидобактериям как основным представителям нормальной микрофлоры кишечника, обеспечивающим высокую колонизационную резистентность кишечного тракта человека и повышающим иммунитет организма. Н. А. Коровиной с соавт. [4] установлено, что снижение количества бифидобактерий (или даже их полное исчезновение) является одним из патогенетических механизмов длительных кишечных инфекций у детей и взрослых, так как ведет к нарушению процессов кишечного всасывания, что приводит к формированию хронических расстройств пищеварения. По данным исследователей [4–7], выраженную антагонистическую активность в отношении патогенных и оппортунистических микроорганизмов проявляют и многие штаммы лактобацилл, благодаря продукции органических кислот, перекисей, антибиотиков и бактериоцинов. Среди лактобацилл в *Lactobacillus acidophilus* как компоненту закваски для лечебных и диетических кисломолочных продуктов, которые широко используются для профилактики и лечения больных с различными видами острых и хронических заболеваний пищеварительного тракта и дыхательных путей, принадлежит ведущая роль. Представители *L. acidophilus* выделяют также вещества, которые понижают липидную пероксидазу и стимулируют рост в кишечном тракте человека лактобацилл и бифидобактерий. В основе создания БК прямого внесения для производства кисломолочных продуктов лежит комплексный подбор микроорганизмов, обладающих спектром свойств, которые в совокупности позволяют обеспечивать все необходимые органолептические, физико-химические и микробиологические свойства конечного продукта.

Цель исследования – создание технологии производства поливидовых концентратов «Пробилакт» для производства продуктов детского питания.

**Материалы и методы исследования.** Опыты проводили в отделе биотехнологи Института мясо-молочной промышленности в 2008–2009 гг. Для производства моновидовых БК использовали штаммы микроорганизмов: *Bifidobacterium ssp.*, *Streptococcus salivaris subsp. thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei*, отобранные из Централизованной отраслевой коллекции промышленных штаммов молочнокислых бактерий РУП «Инсти-

тут мясо-молочной промышленности». Для исследований по разработке состава БК были отобраны 8 штаммов *Streptococcus salivaris subsp. thermophilus*; 6 штаммов *Lactobacillus acidophilus*; 3 штамма *Lactobacillus helveticus*; 4 штамма *Lactobacillus casei*; 6 штаммов *Bifidobacterium ssp.* При отборе учитывали следующие производственно-ценные и медико-биологические свойства: активность сквашивания (образование сгустка в молоке за определенный период времени); антагонистическую активность к условно-патогенной микрофлоре; устойчивость к желчи, фенолу, хлористому натрию, кислой и щелочной реакции среды, антибиотикорезистентность; органолептические свойства; способность накапливать в питательной среде максимально высокое количество жизнеспособных клеток.

Моновидовые БК изготавливали по ранее разработанным техническим условиям в соответствии с технологическими инструкциями: *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* – по ТУ РБ 100377914.487–2000; *Lactobacillus acidophilus* – по ТУ РБ 100377914.493–2002; *Lactobacillus casei* – по ТУ РБ 100377914.519–2005. Параметры культивирования *Lactobacillus helveticus* обрабатывали на лабораторном ферментере «СНЕМАР».

Для определения количества клеток микроорганизмов в БК и готовых кисломолочных продуктах использовали питательные среды: среду Рогоза – для определения количества лактобацилл (ТУ 9229-102-04610209) и гидролизатно-молочную среду – для выявления бифидобактерий (ТУ 10-02-02-789–192). Количество клеток молочнокислых микроорганизмов в готовом продукте определяли по ГОСТ 10444.11, микроскопирование препаратов – по ГОСТ 9225–84. Тепловую обработку молока проводили в автоклаве при температуре  $(98 \pm 2)$  °С в течение 30 мин. Ферментацию молока проводили при температуре  $(37 \pm 1)$  °С. Титруемую кислотность молока и ферментированных продуктов определяли по ГОСТ 3524–92.

**Результаты и их обсуждение.** Технология получения поливидового БК предусматривает два основных способа: получение поливидового БК путем совместного культивирования подобранных микроорганизмов на питательной среде с дальнейшим концентрированием биомассы и лиофильной сушкой (первый способ); получение поливидового БК путем сухого смешивания моновидовых БК отдельных культур микроорганизмов в определенном соотношении (второй способ).

Вследствие того что микроорганизмы, входящие в поливидовой БК, относятся к различным видам бактерий (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus salivaris subsp. thermophilus*, *Bifidobacterium ssp.*), они имеют различную потребность в питательных веществах и развиваются в питательных средах с разной скоростью. Предварительные исследования по совместному культивированию микроорганизмов составленного консорциума не позволили получить поливидовой БК с изначально заданным соотношением видов микроорганизмов, входящих в его состав, поэтому дальнейшие исследования были направлены на получение БК путем смешивания моновидовых бакконцентратов. Такой способ позволяет использовать культуры, полученные в наиболее оптимальных условиях роста, для каждого вида микроорганизмов. Определение соотношения сухих моновидовых БК для получения заданного соотношения культур в поливидовом БК и готовом ферментированном продукте являлось предметом исследования в данной статье.

Введение культуры *Lactobacillus helveticus* в поливидовой БК проводили для повышения функциональности ферментированных продуктов, так как, по данным исследователей, вид *L. helveticus* относится к пробиотикам [8]. Предварительные исследования показали, что максимальное количество жизнеспособных клеток *L. helveticus* было получено при выращивании культуры при 39 °С и внесении в питательную среду 10% посевного материала. Таким образом, каждый технологический этап получения моновидовых бакконцентратов (нарастание биомассы клеток, отделение биомассы от культуральной жидкости, процесс лиофильной сушки) обеспечивал получение БК, соответствующих нормируемым требованиям ТНПА, что позволило использовать их в составе поливидового БК. Результаты накопления биомассы микроорганизмами при производственных выработках моновидовых БК, представленные в табл. 1, показали, что исследуемые штаммы лактобацилл и термофильного стрептококка не совпадали по времени культивирования, поэтому при совместном выращивании культур их заданное соотношение сохраняться не будет.

Таблица 1. Характеристика процесса получения биомассы моновидовых БК

Культура	Время культивирования, ч	Log КОЕ/см <sup>3</sup> в культуральной жидкости	Log КОЕ/г (биомасса)	Log КОЕ/г (концентрат)
<i>L. helveticus</i>	7±1	9,0–9,4	10,0–10,3	10,0–10,4
<i>Str. thermophilus</i>	6±1	9,2–9,6	9,8–10,0	10,3–10,7
<i>L. acidophilus</i>	8±1	9,0–9,4	9,8–10,0	10,3–10,6
<i>L. casei</i>	11±1	9,8–10,2	10,4–10,6	10,4–11,7

Первоначально для получения поливидовых БК подбирали соотношение культур *Streptococcus salivaris subsp. thermophilus* и *Lactobacillus acidophilus* или *Lactobacillus helveticus*, обеспечивающих сквашивание молочной основы, таким образом, чтобы при ферментации пастеризованного молока двухвидовым БК соотношение клеток термофильного стрептококка и культуры лактобацилл составляло 1 : 1. Все образцы ферментированных продуктов имели удовлетворительные органолептические характеристики: плотный сгусток, вязкую и слабвязкую консистенцию, чистый кисломолочный вкус и запах. Значения титруемой кислотности продуктов составляли 70–80 °Т. При анализе микроскопических препаратов полученных образцов установлено, что соотношение, определенное при внесении культур лактобацилл и термофильного стрептококка расчетным путем, в процессе ферментации молока не сохранилось, отмечено преобладание термофильного стрептококка.

Для установления необходимого количества клеток микроорганизмов *Lactobacillus acidophilus* или *L. helveticus* в ферментированном продукте в создаваемом консорциуме соотношение вносимых моновидовых БК изменяли в сторону увеличения количества лактобацилл. Установлено, что для достижения заданного соотношения микроорганизмов необходимо увеличить долю БК *Lactobacillus acidophilus* или *L. helveticus* в 2–2,5 раза. Таким образом, при составлении двухвидового БК соотношение *Streptococcus salivaris subsp. thermophilus* и *Lactobacillus acidophilus* или *Streptococcus salivaris subsp. thermophilus* и *Lactobacillus helveticus* 1 : (2–2,5) взято за основу.

В ходе исследований по определению количественного внесения в молочную основу моновидовых БК *Lactobacillus casei* ( $1 \cdot 10^5$ ;  $6 \cdot 10^5$ ;  $1 \cdot 10^6$  КОЕ/см<sup>3</sup>) и *Bifidobacterium ssp.* ( $1 \cdot 10^6$ ;  $5 \cdot 10^6$ ;  $1 \cdot 10^7$  КОЕ/см<sup>3</sup>) совместно с подобранным двухвидовым БК установлено, что включение культур *Lactobacillus casei* и *Bifidobacterium ssp.* в состав двухвидового БК не оказывало значительного влияния на время сквашивания молочной основы, но изменяло органолептические свойства продуктов. Как видно из табл. 2, при внесении концентратов *Lactobacillus casei* и *Bifidobacterium ssp.* в дозе не менее  $1 \cdot 10^6$  КОЕ/см<sup>3</sup> ферментированные продукты приобретали более выраженный чистый кисломолочный, щиплющий вкус с привкусом органических кислот, характерных для метаболизма этих видов микроорганизмов.

При этом следует отметить, что введение в состав поливидового БК моновидовых концентратов бифидобактерий и *L. casei* значительно повышало функциональность ферментированных молочных продуктов, так как многочисленными исследованиями [4–8] установлено, что кисломолочные продукты, ферментированные пробиотическими бифидо- и лактобациллами, стимулируют иммунную систему и защитные функции организма. Количественный учет пробиотических микроорганизмов в ферментированных продуктах путем посева на питательные среды показал, что содержание лактобацилл в образцах составляло  $(1,3–1,5) \cdot 10^7$  КОЕ/см<sup>3</sup>, бифидобактерий  $(5–7) \cdot 10^6$  КОЕ/см<sup>3</sup>. На основании проведенных исследований были разработаны шесть вариантов поливидовых БК «Пробилакт» с определенным соотношением культур в их составе, которые можно использовать для производства ферментированных молочных продуктов, предназначенных для детского питания, двумя способами: путем прямого внесения или после кратковременной активизации.

Определено, что наилучшими органолептическими свойствами обладали образцы кисломолочных продуктов, сквашенные БК «Пробилакт-3» и «Пробилакт-6». В продуктах, изготовленных на восстановленном витаминизированном молоке для детского питания «Беллакт» и цельном молоке, при инокуляции БК «Пробилакт-3» в оптимальной дозе ( $1 \cdot 10^6$  КОЕ/см<sup>3</sup>) образовывался плотный, хорошо сформированный сгусток. Количество жизнеспособных клеток пробиотических культур (бифидобактерий и лактобацилл) в ферментированных продуктах соответствовало требованиям

Таблица 2. Характеристика продуктов, ферментированных при различных соотношениях БК

Комбинация основы	Количество клеток в основе, КОЕ/см <sup>3</sup>	Доза внесения клеток в нормализованное молоко, КОЕ/см <sup>3</sup>		Температура, °С	Время, ч	Титруемая кислотность, Т°	Органолептические показатели
		<i>L. casei</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i>				
<i>Str. thermophilus</i> + <i>L. helveticus</i>	1·10 <sup>6</sup>	1·10 <sup>5</sup>		+ 37	7 <sup>40</sup>	62	Вязкая, сгусток плотный, чистый кисломолочный
		6·10 <sup>5</sup>		+ 37	7 <sup>40</sup>	65	Вязкая, сгусток плотный, чистый кисломолочный, выраженный
		1·10 <sup>6</sup>		+ 37	7 <sup>30</sup>	67	Вязкая, сгусток плотный, чистый кисломолочный, сбалансированный
<i>Str. thermophilus</i> + <i>L. helveticus</i>	1·10 <sup>6</sup>	1·10 <sup>6</sup>		+ 37	7 <sup>40</sup>	62	Вязкая, сгусток плотный, чистый кисломолочный, щиплющий
		5·10 <sup>6</sup>		+ 37	7 <sup>40</sup>	62	Вязкая, сгусток плотный, чистый кисломолочный, щиплющий
		1·10 <sup>7</sup>		+ 37	7 <sup>40</sup>	62	Вязкая, сгусток плотный, чистый кисломолочный, щиплющий
<i>Str. thermophilus</i> + <i>L. acidophilus</i>	1·10 <sup>6</sup>	1·10 <sup>5</sup>		+ 37	7 <sup>40</sup>	65	Вязкая, сгусток плотный, чистый кисломолочный, выраженный
		6·10 <sup>5</sup>		+ 37	7 <sup>40</sup>	66	Вязкая, сгусток плотный, чистый кисломолочный
		1·10 <sup>6</sup>		+ 37	7 <sup>30</sup>	68	Вязкая, сгусток плотный, чистый кисломолочный, сбалансированный
<i>Str. thermophilus</i> + <i>L. acidophilus</i>	1·10 <sup>6</sup>	1·10 <sup>6</sup>		+ 37	7 <sup>40</sup>	65	Вязкая, сгусток плотный, чистый кисломолочный, щиплющий
		5·10 <sup>6</sup>		+ 37	7 <sup>40</sup>	65	Вязкая, сгусток плотный, чистый кисломолочный, щиплющий
		1·10 <sup>7</sup>		+ 37	7 <sup>40</sup>	65	Вязкая, сгусток плотный, чистый кисломолочный, щиплющий

Таблица 3. Содержание микроорганизмов в ферментированных продуктах

Вид молочной основы	Количество клеток в кисломолочном продукте, КОЕ/см <sup>3</sup>			Требования СанПиН 11 63 РБ по КОЕ /см <sup>3</sup> , не менее		
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	молочнокислые микроорганизмы	<i>Bifidobacterium spp.</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	молочнокислые микроорганизмы	<i>Bifidobacterium spp.</i>
Цельное молоко	4,59·10 <sup>7</sup>	1·10 <sup>8</sup>	1,8·10 <sup>6</sup>			
Восстановленное витаминизированное молоко	2,95·10 <sup>7</sup>	6·10 <sup>8</sup>	1,8·10 <sup>6</sup>			
Восстановленный молочный продукт «Беллакт 1»	2,67·10 <sup>7</sup>	2,5·10 <sup>8</sup>	1,75·10 <sup>6</sup>	1·10 <sup>7</sup>	1·10 <sup>7</sup>	1·10 <sup>6</sup>
Восстановленный молочный продукт «Беллакт 2»	2,33·10 <sup>7</sup>	6·10 <sup>8</sup>	1,75·10 <sup>6</sup>			

СанПиН 11 63 РБ 98 (табл. 3). Нормативным требованиям для продуктов детского питания соответствовали и значения показателей титруемой и активной кислотности ферментированных продуктов.

Соответствие образцов концентрата бактериального «Пробилакт» требованиям проекта ТНПА, СанПиН 11 63 РБ 98 и ГН 1–117–99 подтверждено испытаниями, проведенными аккредитованной лабораторией Республиканского испытательного центра качества мясной и молочной продукции.

**Заключение.** На основании проведенных исследований подобран состав микрофлоры поливидовых БК «Пробилакт» и оптимизировано соотношение микроорганизмов. Исследован процесс ферментации молочного сырья и подобрана оптимальная доза инокуляции его бактериальными концентратами «Пробилакт». Использование для ферментации молочных основ поливидовых

вых БК «Пробилакт», содержащих пробиотические микроорганизмы, позволит получать функциональные ферментированные продукты, систематическое применение которых будет оказывать положительное влияние на здоровье детей и взрослых.

### Литература

1. С о р о к и н а, Н. П. Бактериальные концентраты и их ротация / Н. П. Сорокина // Переработка молока. – 2006. – № 2. – С. 19–21.
2. П е р ф и л ь е в, Г. Д., С в и р и д е н к о Ю. Я. Производство и применение бактериальных концентратов / Г. Д. Перфильев, Ю. Я. Свириденко // Сыроделие и маслоделие. – 2006. – № 3. – С. 24–29.
3. Я р к и н а, Я. А. Бакконцентрат бифидобактерий и *Lactobacillus casei* / Я. А. Яркина // Молочная промышленность. – 2005. – № 2. – С. 34–35.
4. Роль пребиотиков и пробиотиков в функциональном питании детей / Н. А. Коровина [и др.] // Лечащий врач. – 2005. – № 2. – С. 17–23.
5. C h e n g, C. Associative relation between Bifidobacteria and *Lactobacillus* in milk / C. Cheng, T. Nagasava // J. Zootech. Sc. – 1983. – Vol. 54, N 11. – P. 32–34.
6. K l e b a n o f f, S. J. Viricidal effect of *Lactobacillus acidophilus* on human immunodeficiency virus type 1: possible role in heterosexual transmission / S. J. Klebanoff, R. W. Coombs // J. Exp. Med. – 1991. – Vol. 174, N 1. – P. 289–292.
7. P e d o n e, C. A. The effect of supplementation with milk fermented by *Lactobacillus casei* DN-114001, on acute diarrhoea in children attending day care centers / C. A. Pedone, A. O. Bernabeu, E. R. Postaire // Intern. J. Clin. Pract. – 1999. – Vol. 53. – P. 179–184.
8. Ш е н д е р о в, Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание / Б. А. Шендеров. – М.: Грантъ, 2001. – Т. III. – С. 86–93.